

妥;增大改性剂用量能提高莪术醇,但改性剂用量的增加会导致改性剂回收任务的加重。

静态萃取时间对萃取率有一定的影响,理论上增加静态萃取时间,有利于 CO_2 溶剂扩散到固体颗粒内部,可以适当提高莪术醇的萃取率,但这种萃取率的提高是有限的,因此选择为 20 min;萃取温度对萃取结果是不显著的,随着温度的提高,莪术醇萃取率有微小提高,考虑到能耗等原因,取 35~40 °C 为宜。

根据响应曲面模型求出最优组合,并综合响应曲面分析图分析,得到综合的最优组合为 $X_1=20$, $X_2=40$, $X_3=90$, $X_4=24$, $X_5=0.70$, $X_6=20$ 。

3.3 验证试验:取 200 g 粉碎过筛的莪术粉,按优化后的条件进行萃取试验,制备 3 批样品,测定莪术醇的量,其平均值为 0.602 9 mg/g,响应模型预测的相对误差为 0.8%。

4 讨论

优化后的萃取工艺为:萃取温度 40 °C、萃取压力 20 MPa、动态萃取 120 min、改性剂用量 24 mL、改性剂体积分数 70%、静态萃取时间 20 min。

通过响应曲面分析,得到高精度和高显著性的响应模型,而且模型中因素之间的交互作用极为显著。利用响应模型对实验结果进行预测,其绝对误差不大于 0.6%。

References:

- [1] Rastogi N K, Rashmi K R. Optimization of enzymatic liquefaction of mango pulp by response surface methodology [J]. *Eur Food Res Technol*, 1999, 209: 57-62.
- [2] Gouveia E R, Alvaro B N. Optimization of medium composition for clavulanic acid production by *Streptomyces clavuligerus* [J]. *Biotechnol Lett*, 2001, 23: 157-161.
- [3] Giovinni M. Response surface methodology and product optimization [J]. *Food Technol*, 1982, 37 (1): 41-45.
- [4] Li G D, Xu F, Shen A J. Progress in the research of zedoary turmeric oil [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2002, 37 (1): 806-809.
- [5] Deng R, Chen J M, Wu W Y. The anti-tumor activity of zedoary turmeric oil gelatin microspheres for heparical arterial Em-bolization [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2000, 17 (3): 197-199.
- [6] Xu H Q, Li Y D. Introduction to the research of *Curcuma* [J]. *J Gansu Coll Tradit Chin Med* (甘肃中医学院学报), 1995, 12 (1): 46-48.
- [7] Zheng S Z, Wu W H. Determining the content of curcuminol by gas chromatography [J]. *Acad J Guangdong Coll Pharm* (广东药学院学报), 1997, 13 (2): 120-121.

HPLC 法测定半枝莲及其制剂热炎宁胶囊中野黄芩苷

高晓霞,原红霞,赵云丽,刘 涛,于治国*

(沈阳药科大学药学院,辽宁 沈阳 110016)

热炎宁胶囊由蒲公英、虎杖、败酱和半枝莲 4 味药材经提取加工制备而成,具有抗菌消炎、清热解毒的功效,临床上用于咽喉肿痛、急性咽炎、风热感冒、发热等症^[1]。目前对于热炎宁胶囊的质量控制方法仅限于薄层扫描法对大黄的测定^[1]。由于野黄芩苷(scutellarin)为半枝莲抗菌消炎的主要活性成分之一^[2~4],本研究实现了制剂中野黄芩苷的测定。另外,由于作为原料的中药材受地域、气候、采收季节等方面的因素影响较大,为使质量标准更加完善,因此同时作为内控指标对半枝莲药材也进行了测定,建立了一种简便、快捷、专属、可靠的方法,优化了《中国药典》2005 年版一部中半枝莲中野黄芩苷的测定方法。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(岛津 LC-10AT *vp* Shimadzu 液相色谱仪,7725 型手动进样器,岛津 SPD-10A *vp* 紫外检测器和 ANASTAR 色谱工作站);DL-180 型超声波发生器(浙江省象山县石浦海天电子仪器厂);BS110S 型万分之一天平。

野黄芩苷对照品(批号 0756-200110)购自中国药品生物制品检定所;半枝莲药材(江西 01、02、03 批)、热炎宁胶囊(规格:0.5 g/粒,批号为 040907、050302、050401)均购自沈阳成大方圆药品连锁店,其中药材经沈阳药科大学药教研室孙启时教授鉴定;乙腈为色谱纯,甲醇、乙醇与冰醋酸为分析纯,水为实验室自制重蒸水。

收稿日期:2006-11-22

作者简介:高晓霞(1981—),女,山西省平遥县人,在读博士研究生,2002 年 7 月毕业于山西医科大学,2006 年 7 月获得沈阳药科大学理学硕士学位,主要从事中药质量标准及药理学研究。Tel: (024)23986295 E-mail: gaoxiaoxia6218@163.com

* 通讯作者 于治国

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Dikma C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-水-冰醋酸 (19:76:5); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 335 nm; 柱温: 30 ℃。在上述条件下, 野黄芩苷色谱峰与供试品溶液中其他组分色谱峰达到了基线分离, 在上述色谱条件下。阴性试验结果表明, 阴性对照无干扰 (图1), 证明此分离条件可行。其中野黄芩苷保留时间约为 10.0 min; 与前后相邻峰间分离度均大于 1.5, 理论塔板数以野黄芩苷计不低于 3 000。

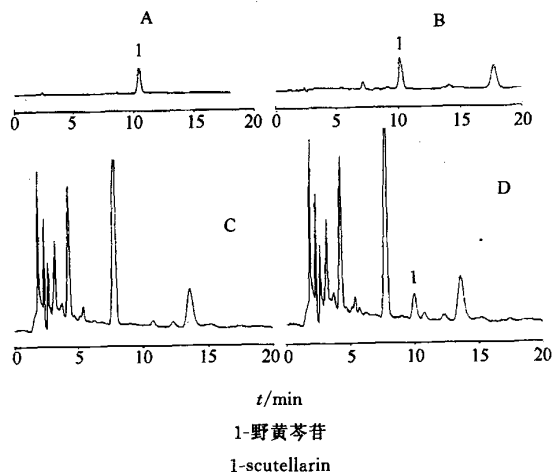


图1 野黄芩苷对照品 (A)、半枝莲药材 (B)、缺半枝莲的阴性 (C) 与热炎宁胶囊 (D) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of scutellarin (A), *S. baaraata* (B), negative sample without *S. baaraata* (C), and Reyanning Capsula (D)

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备: 取野黄芩苷对照品 23.2 mg, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取 5.0 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.2 制剂供试品溶液的制备: 取热炎宁胶囊内容物, 研匀, 取约 0.5 g, 精密称定, 置 50 mL 圆底烧瓶中, 精密加入 70% 甲醇溶液 25 mL, 称定质量, 水浴回流 30 min, 放冷, 称定质量, 用 70% 甲醇溶液补足损失质量, 摇匀, 0.45 μm 滤膜滤过, 即得。

2.2.3 药材供试品溶液的制备: 取半枝莲药材适量, 研碎, 精密称取药材细粉约 0.5 g 置 50 mL 圆底烧瓶中, 精密加入 70% 甲醇溶液 25 mL, 称定质量, 水浴回流 30 min, 放冷, 称重, 用 70% 甲醇溶液补足损失质量, 摇匀。取 10 mL 置 50 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇稀释至刻度摇匀, 滤过, 即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备: 取除半枝莲以外的 3

味药材, 照《中国药典》2005 年版一部热炎宁颗粒项下制法制备阴性样品。取阴性样品适量, 精密称定, 按制剂供试品溶液的制备方法操作, 即得。

2.3 线性关系考察: 精密称取野黄芩苷对照品 23.2 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品储备液。精密吸取对照品储备液 0.3、0.6、1.5、3.0、4.5、6.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别取 10 μL 进样, 按上述色谱条件测定。以野黄芩苷的质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 计算回归方程为 $Y = 841\,773X - 16\,084$, $r = 0.999\,8$ 。结果表明野黄芩苷在 6.96~139.2 μg/mL 与峰面积呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验: 取同一对照品溶液, 连续进样 6 次, 测定野黄芩苷峰面积值, 其 RSD 为 0.8%。

2.5 重现性试验: 取同一批 (批号 050302) 热炎宁胶囊样品, 制备 6 份制剂供试品溶液, 进样, 测定, 结果野黄芩苷的质量分数为 1.88 mg/粒, RSD 为 1.4%; 取同一批 (批号 02) 半枝莲药材样品, 平行制备 6 份药材供试品溶液, 进样, 测定, 结果野黄芩苷的质量分数为 8.36 mg/g, RSD 为 1.4%。

2.6 稳定性试验: 取热炎宁胶囊供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8、12、24 h 进样, 测定, 计算得野黄芩苷质量分数为 1.88 mg/粒, RSD 为 1.4%; 取半枝莲药材供试品溶液分别于 0、2、4、6、8、12、24 h 进样, 测定, 计算得野黄芩苷质量分数为 8.35 mg/g, RSD 为 2.0%。

2.7 回收率试验: 称取批号为 050302 的热炎宁胶囊内容称约 0.25 g, 分别精密加入 0.116 mg/mL 野黄芩苷对照品溶液 2.0、4.0、6.0 mL, 制备制剂供试品溶液, 测定, 结果平均加样回收率为 100.1%, RSD 为 1.6% ($n=9$); 称取批号为 02 的半枝莲药材约 0.25 g, 分别精密加入 0.116 mg/mL 野黄芩苷对照品溶液 9.0、18.0、27.0 mL, 制备药材供试品溶液, 测定, 结果平均加样回收率为 99.9%, RSD 为 1.8% ($n=9$)。

2.8 样品测定: 分别取药材和制剂供试品溶液及相应的对照品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 依照上述色谱条件测定峰面积, 按标准曲线法计算野黄芩苷, 结果见表 1。

3 讨论

3.1 样品提取条件的考察: 《中国药典》2005 年版一部对于半枝莲药材的野黄芩苷测定采用索氏提取, 但操作烦琐、费时。为使野黄芩苷提取更加完全, 本研究对提取方法 (超声和回流) 和溶媒 (甲醇、95%

表 1 热炎宁胶囊、半枝莲药材中野黄芩苷的
测定结果($n=5$)

Table 1 Scutellarin in Reyanning Capsula
and *S. barata* ($n=5$)

热炎宁胶囊 批 号	野黄芩苷/ (mg·粒 ⁻¹)	RSD/ %	半枝莲 批 号	野黄芩苷/ (mg·g ⁻¹)	RSD/ %
040907	1.88	0.2	01	8.33	0.2
050302	1.90	0.3	02	8.43	0.4
050401	1.91	0.4	03	8.35	0.8

乙醇、70%甲醇、70%乙醇、50%甲醇、50%乙醇、30%甲醇、30%乙醇和水)进行了考察。由于野黄芩苷在甲醇中的溶解性较好,结果制剂与药材中均以70%甲醇回流30 min 提取最完全。

3.2 检测波长的选择:选择了野黄芩苷对照品的最大紫外吸收波长 335 nm,检测灵敏度高、专属性强。

3.3 流动相系统的选择:分别用甲醇-水、甲醇-水-冰醋酸、甲醇-水-冰醋酸-四氢呋喃、乙腈-水、乙腈-水-冰醋酸以不同比例进行考察,结果表明乙腈-水-冰醋酸这一流动相系统色谱峰峰形好,柱效高,可达到理想的分离度。

References:

- [1] State Standard of Drug (国家药品标准) [S]. 2002.
- [2] Xiao H T, Li X. Advances in studies on chemical constituents and pharmacological activities of *Scutellaria barata* [J]. *Res Inf Tradit Chin Med* (中药研究与信息), 2005, 7 (4): 20-22.
- [3] Jiang X L, Gu Z L. Chemical constituents and pharmacological activities of *Scutellaria barata* [J]. *Chin Wild Plant Resour* (中国野生植物资源), 2004, 23(1): 3-5.
- [4] Zou J L, Wu Q N. Advances in studies on chemical constituents and pharmacological activities of *Scutellaria barata* [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2005, 16(2): 149-151.

微乳薄层色谱法鉴别甘草的研究

崔淑芬^{1,2}, 林焕冰³, Frank S. C. Lee⁴, 王小如^{2,4}

(1. 深圳职业技术学院 应用生物技术系, 广东 深圳 518055; 2. 厦门大学化学化工学院 现代分析科学教育部重点实验室, 福建 厦门 361005; 3. 南方医科大学 药理学教研室, 广东 广州 510515; 4. 国家海洋局第一海洋研究所 青岛现代分析技术及中药标准化重点实验室, 山东 青岛 266061)

甘草为重要的常用中药,素有“国老”之称,具止咳化痰、解毒清热、缓急止痛及调和诸药等作用,俗称“十方九草”,在临床上有大量的应用。《中国药典》2005 年版收录的甘草药材有 3 种:乌拉尔甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *G. inflata* Bat. 和光果甘草 *G. glabra* L. 不同种类的甘草成分有一定的区别^[1],而采用现有的药典方法并不能区分不同种类的甘草^[2]。微乳薄层色谱是近几年发展的薄层色谱新方法^[3~5],处于方法的初创阶段。笔者所在的课题组对微乳薄层色谱进行了系统的理论和应用研究,本实验研究微乳薄层色谱应用于 3 种甘草药材的鉴别。

1 仪器与材料

GAMAG Linomat 5 半自动点样仪, CAMAG ReproStar 3 薄层色谱数码成像系统;聚酰胺薄膜(浙江台州四青生化材料厂);Grant XB14 超声波清洗机;滤膜(美国 Millipor Corporation, 孔径 0.45 μm)。

表面活性剂十二烷基硫酸钠(SDS)为分析纯(Bio. Basic. Inc.)。正丁醇、甲酸、正庚烷和甲醇皆为分析纯,国产试剂。水为超纯水。对照品甘草苷(质量分数为 96.4%)由厦门大学傅博强博士制备,甘草查耳酮甲(质量分数为 99.1%)由厦门大学王巧娥博士制备。

甘草药材由中国亿利资源集团公司提供,由中国医学科学院药用植物研究所林寿全教授鉴定品种。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备:将甘草生药适当粉碎后过 60 目筛。精密称取甘草药材粉末 0.4 g,加入 50%甲醇溶液 40 mL,冷浸 10 h 后超声提取 30 min,离心。上清液挥干,加 2 mL 甲醇定容,过 0.45 μm 滤膜,滤液作为供试品溶液和 2.0 mg/mL 的甘草苷对照品溶液和 2.0 mg/mL 的甘草苷对照品溶液。

2.2 对照品溶液的配制:以甲醇为溶剂,配制 2.0 mg/mL 的甘草查耳酮甲对照品溶液。

2.3 微乳展开剂的配制:笔者对甘草的微乳展开剂

收稿日期:2006-08-08

基金项目:国家自然科学基金重点项目(20235020)

作者简介:崔淑芬(1969—),女,辽宁抚顺人,副教授,博士,主要从事中草药及海洋药物研究。

Tel: (0755) 26731146 E-mail: shufencui@163.com